

映する臨床的マーカーとなりうることが推測された。これまでわれわれは、潜行型においては急性型に比し、糸球体病変に加え間質病変の存在が特徴的であり、経過は遷延するものの、急性型のみならず潜行型においても m-PSL パルス療法により予後の改善が得られることを報告してきた。これまで、この治療効果発現機序の分子生物学的背景については明らかとなっていない。近年、副腎皮質ステロイドの作用機序として、NF- $\kappa$ B 活性を阻害することにより、interferon(IFN)- $\gamma$ ならびに TNF- $\alpha$ の産生を抑制することが判明している。IFN- $\gamma$ ならびに TNF- $\alpha$ は、MCP-1 発現亢進をさせることより、副腎皮質ステロイドは直接的、もしくは IFN- $\gamma$ および TNF- $\alpha$ の抑制を介して MCP-1 抑制に間接的に作用し、腎疾患治療に有効である可能性が考えられる。

#### E. 結論

ヒト半月体形成性腎炎において、MCP-1 が病因、病型にかかわらず間質病変を中心に、RPGN の発症・進展の共通因子として重要な役割をはたしていることが示された。このことより MCP-1 制御は半月体形成性腎炎に対する新たな治療戦略として有用である可能性が示された。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 知的所有権の出願・登録状況

特になし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

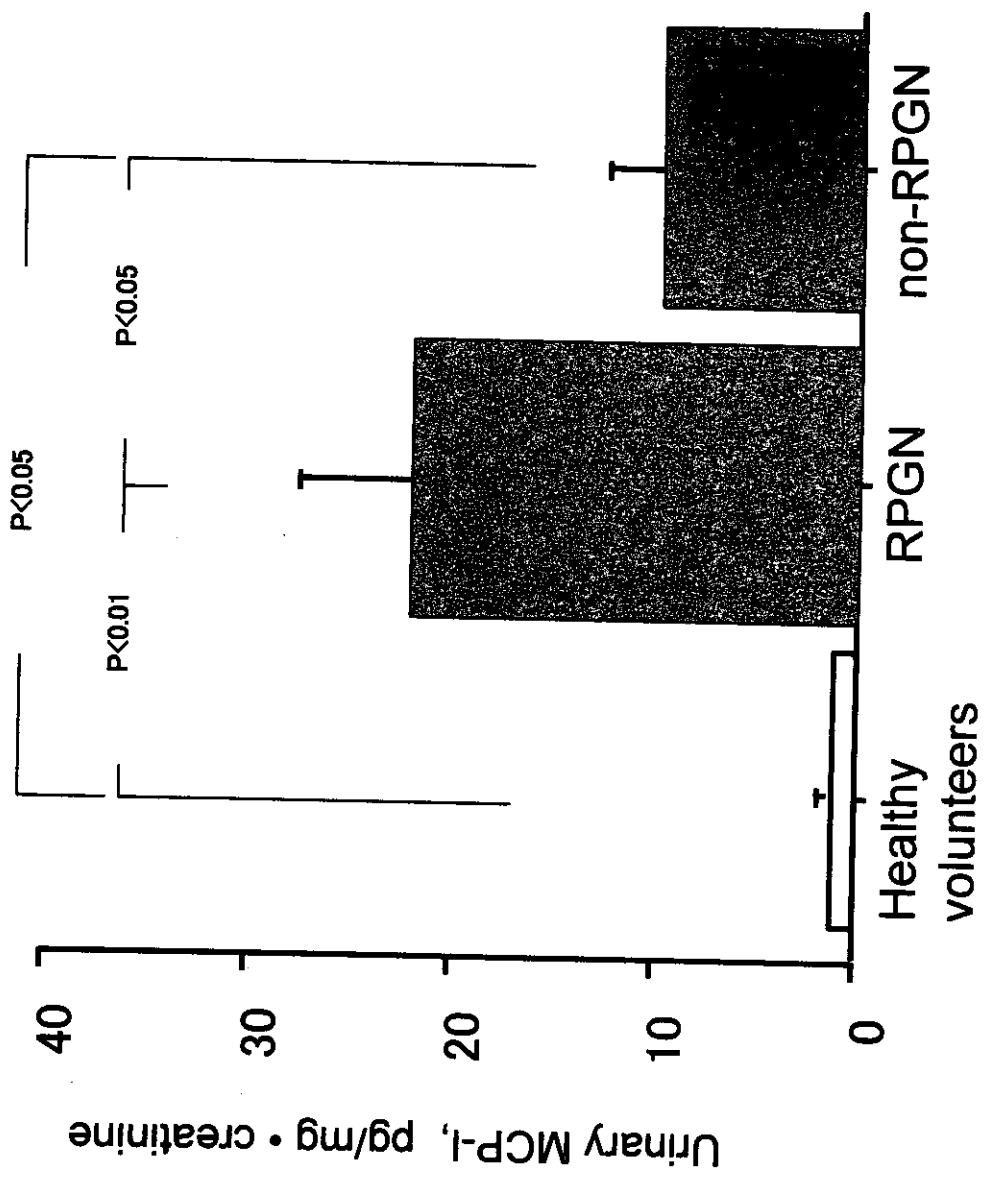
Yoshimoto K, Yokoyama H, Wada T, Furuichi K, Sakai N, Iwata Y, Goshima S, Kida H. Pathological findings of initial biopsies reflect the outcomes of membranous nephropathy. *Kidney Int* 65; 148-153, 2004.

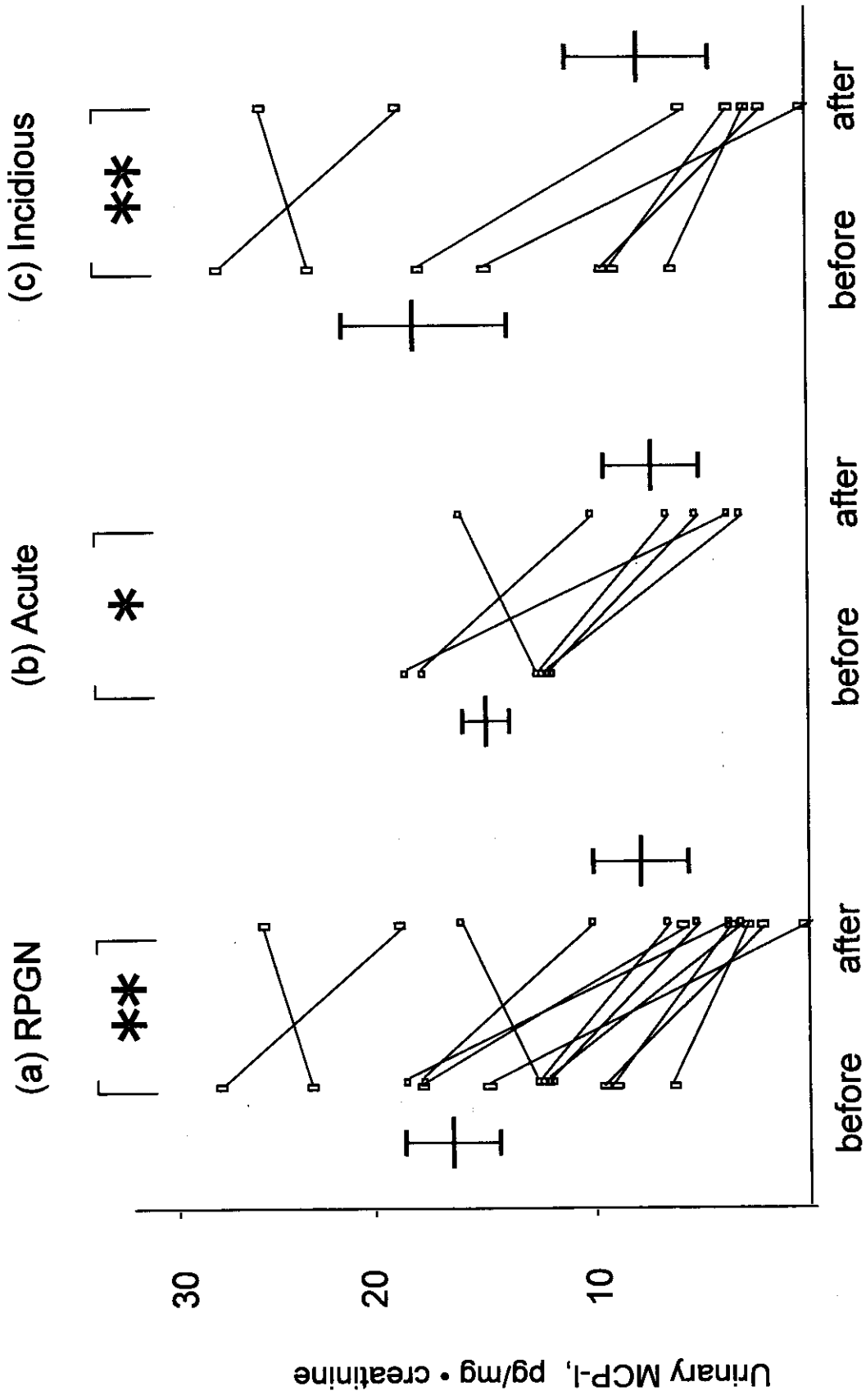
Sakai N, Wada T, Furuichi K, Kitagawa K, Kokubo S, Kobayashi M, Takeda S, Kida H, Kobayashi K, Mukaida N, Matsushima K, Yokoyama H. p38 MAPK phosphorylation and NF- $\kappa$ B activation in human crescentic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 17:998-1004, 2002.

##### 2. 学会発表

特になし

图 1





「難治性腎疾患の進展抑制の為の新たな指標作成とそれに基づく治療指針作成に関する研究」

分担研究者 安田 和基 国立国際医療センター研究所

研究要旨

糖尿病性腎症の遺伝因子解析のため、候補遺伝子/SNPの選択及びタイピングを行った。本年度は特に臨床情報と比較検討可能な候補として「炎症・酸化ストレス関連」4 遺伝子、また「高血糖からの代謝経路」5 遺伝子、の合計 9 遺伝子を選択した。遺伝子領域を効果的にカバーするために Assays-on-Demand に登録された 53SNP を選び、220 サンプルについて TaqMan 法を用いてタイピングを行った。

A. 研究目的

年間 1 万人程度が糖尿病性腎症により透析治療を開始しており、糖尿病患者の生命予後や QOL だけでなく、医療経済上も大きな問題となっている。

糖尿病性腎症の発症進展には、遺伝的背景の関与が強く疑われているため、本研究により、日本人における遺伝因子を同定し、腎症進展のハイリスク群に対するより効果的な患者管理を可能にし、また、腎症抑制の新たな創薬への道を拓くことを目的とする。

B. 研究方法

1) 候補遺伝子の選択

「糖尿病性腎症」の「腎症」に関係する因子は非常に多岐にわたるためカテゴリー別に整理して戦略を立てた(表 1)。

これらに属する遺伝子は数十以上に及ぶが、遺伝因子も恐らく多因子によると考えられる。そのため 1 つの遺伝因子が腎症に寄与する効果は必ずしも強くなく、症例によって遺伝的に不均一性が存在するため、腎症全体ではなかなか有意な結果を得られにくい。

本研究は、この点を克服するために「腎症」の非進展例、進展例の比較、という従来の方法だけで

なく、いわゆる「中間形質」(intermediate traits)にあたる検査所見をも遺伝子解析の対象とし、候補遺伝子を選択する。具体的には尿中サイトカイン、ケモカイン、尿中 NOx、尿中 IV 型コラーゲンなど、主に炎症、酸化ストレス関連のデータがそろっている遺伝子を中心とする。

2) 多型(SNP)の選択

解析すべき多型は、当初は既報の文献及び日本人 SNP データベース(JSNP)を依り所とする予定であった。しかし、従来の候補遺伝子解析では、エクソン部分のアミノ酸変異をとまうものばかりが目立っていた。しかしながら多因子遺伝病の遺伝因子は、必ずしもアミノ酸変異をとまう必要はなく、プロモーター領域やイントロン、あるいはごく近傍に存在してもよい(図 1)。

遺伝因子の相関解析にて遺伝子領域を効果的にカバーする方法として、最近一定の間隔に配置された、しかも頻度の高い SNP マーカーを用いる方法が目立っている。これはゲノムの LD(=連鎖不平衡)ブロックを考慮して、ブロックのいわば代表 SNP として選択するものである。その SNP 自体は病態の原因である必要もなく「マーカー」にすぎず、イントロンやプロモーター領域あるいは遺伝子近傍でもかまわない(図 2)。ヒトゲノム解読完了宣言(平成 15 年)により、SNP

情報も急速に集積され、このようなマーカーの選択が可能となった。「LDブロック」の範囲はゲノム上でかなり不均一だが、大体3-10kbとされている。

こうした考え方をもとに SNP タイピング用にデザインされた TaqMan プローブが平成 15 年に市販開始された(商品名 Assays-on-Demand 以下 AoD: アプライドバイオシステムズ社)。我々は平成 14 年度から TaqMan プローブの系を立ち上げていたので原則としてこの方法をまず用いることとした。

なお AoD が登録されていない遺伝子では、JSNP データベース(<http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/>)に日本人 SNP が登録されているかを調べ、該当 SNP についてタイピングを行う。AoD、JSNP いずれにも登録がなく、かつ重要な遺伝子については、日本人 48 人を用いた直接シーケンス法にて SNP discovery を行い、前述の考え方に従ってタイピングする SNP を決定する。

### 3) タイピング法

タイピングは上述のように、TaqMan 法を中心とし、これらが有効でないものは PCR-直接シーケンス法による。PCR-RFLP 法も適宜併用する。挿入/欠失多型の同定には、特殊なプライマーの修飾やラベルを必要としない WAVE システム(heteroduplex 法)を併用する。WAVE システムについては多型のスクリーニングやミトコンドリア遺伝子異常のヘテロプラスミー検出に応用して成果を挙げており、本研究の予備実験において挿入/欠失の検出についても有効性を確認している。

## C. 研究結果

平成 14 年度にすでにゲノムの定量、及び quality check もほぼ完了しており、平成 15 年度は候補遺伝子及び SNP の選択タイピングを行った(図 3)。タイピングを行った遺伝子及び AoD は表 2 の通りである。

AoD は表 2 のようにほとんどエクソン以外から選択されている。複数の SNP が登録されている場合その間隔は 1-15kb であり、ほぼ LD ブロックを考慮して選択されている。白人を中心に頻度情報が付けてあり、マイナーアレル頻度はほとんど 15% 以上となっている。日本人では、より頻度が高いもの

の、低いものも散見され、1 つだけ日本人に存在しない SNP もみられた。表 3 に、エクソン内に存在した AoD 4 つについて頻度の比較を示す。

従来から SNP には人種差が存在することが知られており、アジア人の SNP の 15% はアジア人特有との推定もあったが、このように common SNP として validate されたものについても人種差がみられたことは興味深い。しかし、ほとんどの SNP は日本人でも多型を示し候補遺伝子のスクリーニング用としては十分有用と考えられた。

CYBA (=p22phox) については、重要な候補遺伝子であるが、AoD の登録がみられず一方 JSNP に 5 つ登録されていた。これらにつき Assays-by-Design にて TaqMan プローブを作成しようとしたがうまくゆかなかつたので、直接シーケンス法にてタイピングを試みた。

\* (倫理面への配慮) 本研究は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)」を遵守する。すなわち、すべての検体は文書を用いて遺伝子解析研究を含む臨床研究(糖尿病性腎症の研究)について説明を受け、文書で同意を得ている。検体はすべて「既取得試料」であるが、国立佐倉病院で匿名化されて国立国際医療センターに送られ、遺伝子多型の決定の後、その結果は国立佐倉病院へ返却され、臨床情報と合わせて解析が行われる。

一連の研究は、統括研究責任者の所属する国立佐倉病院の倫理委員会にて承認を受けているほか、国立国際医療センターの倫理委員会でも承認を得ている(平成 14 年 9 月 13 日)。当センターでは、検体がすべて匿名化されていること、臨床情報は全く送られず遺伝情報と臨床情報を合わせた解析は当センターで行わないことを条件に承認された。

## D. 考察

選択した候補遺伝子の中には既に腎症との関連の可能性を報告されたものもある一方、否定的な報告も多い。我々は多彩な因子の関与する「腎症」だけでなく、尿中サイトカインほか病態を表現する形質との相関を検討できることから、パネル及び研究デザイン、検出力は従来にまさると思われる。

本研究に平成 14 年度から参加したため、倫理審査委員会の承認など手続きに時間がかかり、候補遺伝子の選択及び解析の予備実験、解析用ゲノムの調製などに時間がかかった。しかし、SNP の同定及びタイピングのシステムは、必要な機器とともに構築されており、平成 15 年度後年よりタイピングは順調に進んでいる。今後は、

- 1) 有意な相関を示して SNP については、「マーカー」としての役割を考えられるので、その周辺の SNP を同定して詳しいタイピングを行い、真の責任 SNP を同定する。
  - 2) 上記の SNP の生化学的効果を検定する。
  - 3) 更に新たなジャンルの候補遺伝子の解析を進めてゆく。
- などが重要と考えられる。

#### E. 結論

糖尿病性腎症遺伝因子解析のパネルについて、効果的な候補遺伝子解析/SNP の選定/タイピングシステムを稼働し解析を進めた。現在タイピング結果をもとに、国立佐倉病院にて臨床像と対応させた詳しい解析を進めている。こうしたアプローチにより多因子による糖尿病性腎症の成因に迫ることができると期待される。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 候補遺伝子のカテゴリー (糖尿病性腎症)

- 1.代謝異常から臓器障害へのパスウェイ  
(ポリオール代謝、脂質代謝、酸化ストレス、PKC、ヘキソサミン経路など)
- 2.腎固有の臓器障害を生じるパスウェイ  
(RAS系、細胞外マトリックス、  
尿細管チャネル/トランスポーターなど)
- 3.炎症性シグナル(サイトカインなど)
- 4.血小板機能関連
- 5.腎発生分化関連因子(転写因子など)
- 6.糖尿病(感受性)遺伝子(共通の遺伝素因の可能性)
- 7.高血圧の原因遺伝子(2,3とかなりオーバーラップ)
- 8.位置的候補遺伝子(例:ヒマの3,7,9,20番など)
- 9.その他(他の遺伝性腎疾患原因遺伝子など)

表2 Assays-on-Demandに用いた候補遺伝子SNP

ジャンル	遺伝子名	LOCUS Link	一般名	染色体	AoD	うちエクソン	intron	intergenic
酸化ストレス	SOD2	6648	Mn-SOD	6q25.3	1	0	0	1
	NOX1	27035	NADPH oxidase1	Xq22	5	0	5	0
	CYBA	1535	p22-phox	16q24	0	0	0	0
	CYBB	1536	gp91-phox	Xp21.1	1	0	1	0
	SLC16A1	6566	GLUT1	1p12	9	3	6	0
高血糖関連パスウェイ	AGER	177	AGE-specific receptor	6p21.3	25	1	22	2
	AKR1B1	231	Aldose reductase	7q35	3	0	1	2
	SORD	6652	Sorbitol dehydrogenase Glutamine-fructose-6- phosphate trans aminase 1	15q15.3	1	0	0	1
	GFPT1	2673		2p13	8	0	5	3

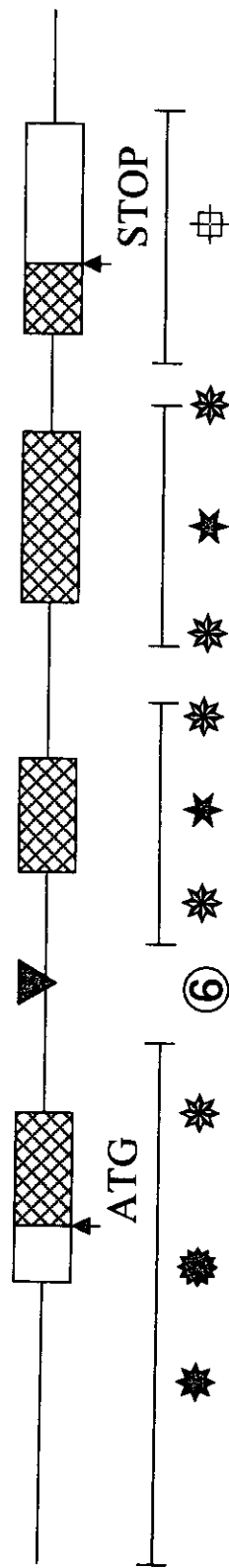


表3 エクソンに存在するAoD-SNPのマイナーアリル頻度

プローブID	遺伝子名	種類	セレラ Caucasian	セレラ African Am	セレラ Japanese	セレラ Chinese	今回のパネル
C16194495	SLC16A1	Silent	0.19	0.05	0.08	0.06	0.11
C1166185	SLC16A1	Silent	0.16	0.16	0.18	0.3	0.25
C1166171	SLC16A1	3'-UTR	0.02	0.46	0.42	0.38	0.35
C3293780	AGER	Mis-sense	0.31	0.28	-	-	0.22

図1

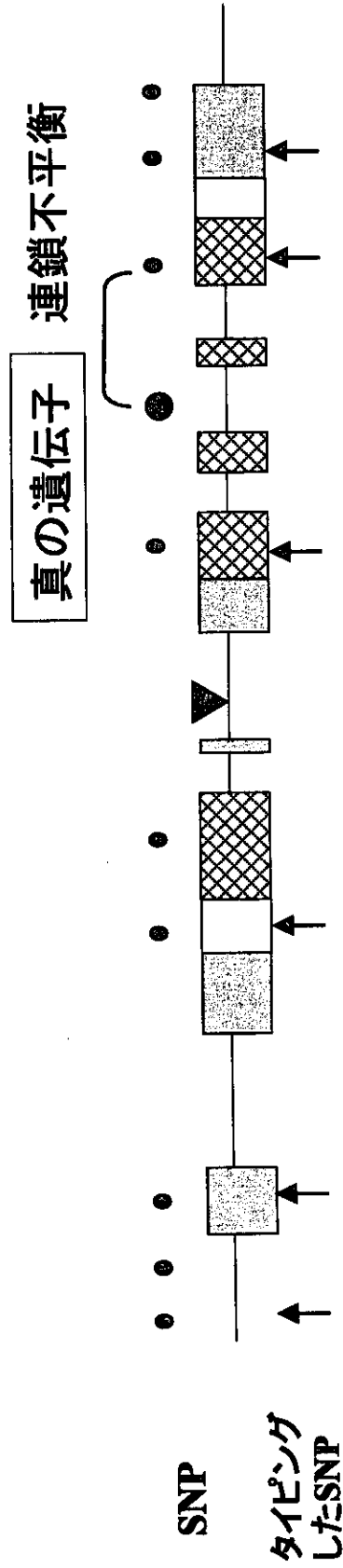
# 遺伝因子の存在する可能性のある領域



- ★ タンパクコード領域
- ★ 転写開始点(又は翻訳開始点)より上流
- 5'-UT
- ✱ Flanking intron
- ⊃ 3'-UT
- ⑥ Intron内の挿入／欠失やmicrosatellite

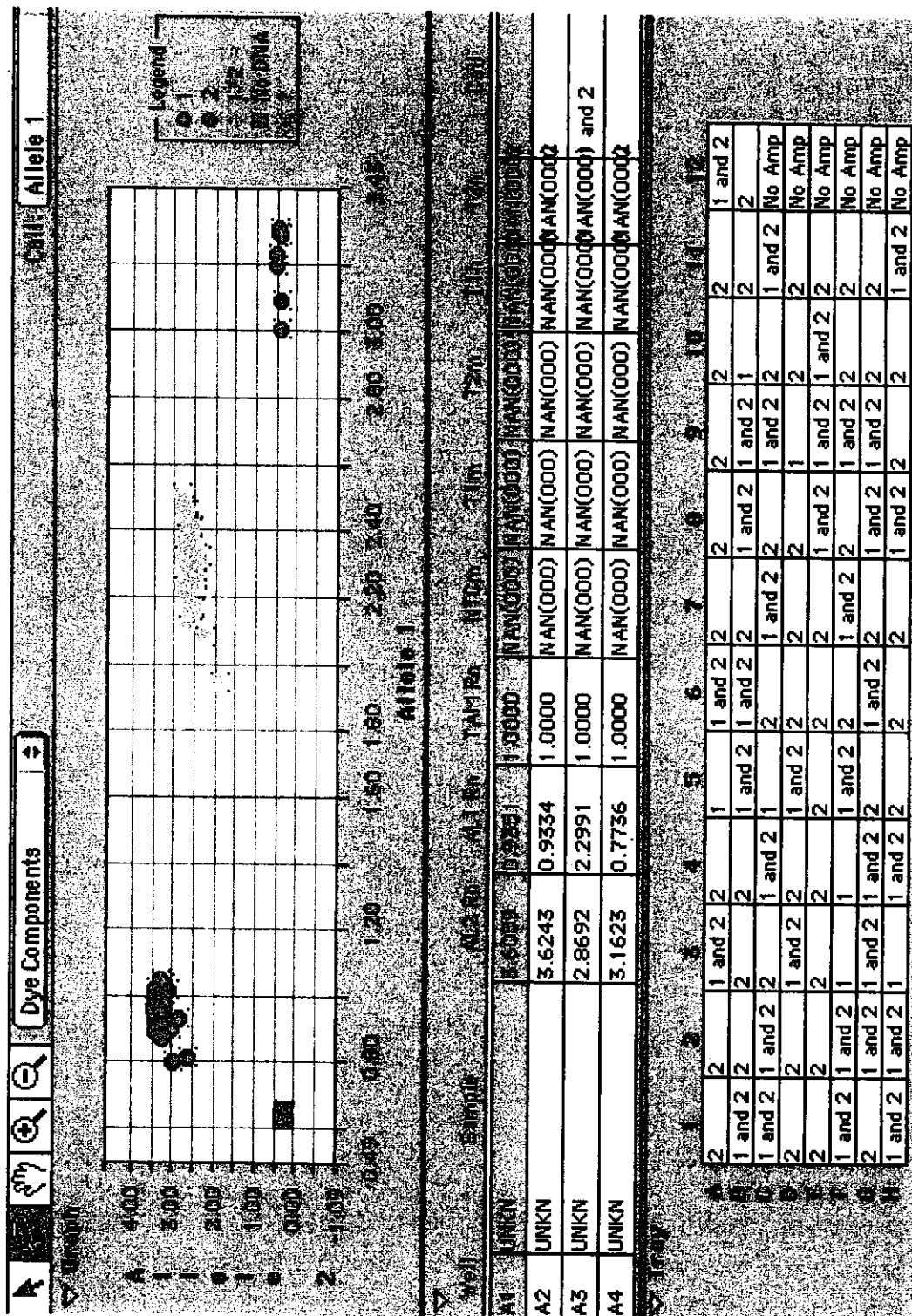
図2

## 候補遺伝子をカバーするSNPすべてタイピングの戦略



- ◎「ある間隔」で「頻度の高いSNP」をタイピングすれば、  
遺伝子領域としてはカバーできる
- ◎ タイピングしたSNPは「マーカー」としての役割を果たす
- ◎ 相関が見られなくてもそれが「正解」とは限らないので、さらに細かい  
タイピングへ進む

図3 AODタイピング例



厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）  
分担研究報告書

難治性腎疾患の進展抑制の為の新たな指標作成とそれに基づく治療指針作成に関する研究  
—難治性腎疾患の経年変化に関する疫学・統計—

分担研究者 島 正之 千葉大学大学院医学研究院公衆衛生学助教授

**研究要旨** 本研究は、糖尿病性腎症進展に関わる疾病特性と遺伝的因子を明らかにすることを目的として、全国規模で構築された国立病院・療養所の腎疾患ネットワークシステムに登録されたⅡ型糖尿病性腎症の症例を対象に、登録後3年目までの経年変化を観察した。3年間の観察期間中に血清クレアチニン2.0 mg/dl以上となったものは12名、透析導入となったものは3名であり、これらはいずれも登録時に顕性腎症のものであった。糖尿病性腎症の悪化に関連する因子として、糖尿病の罹病期間（登録時に18年以上）、収縮期血圧高値（追跡1年目>140 mmHg）、降圧療法、高脂血症、凝固系亢進、尿中Ⅳ型コラーゲン、fibronectin、MIG高値が見いだされた。遺伝子多型については、vWF (Hph I)のAAまたはAG genotypeのものはGG genotypeに比して顕性腎症悪化のリスクが有意に大であり、vWF (Hph I)遺伝子多型が糖尿病性腎症の進展に関与している可能性が示唆された。以上より、糖尿病性腎症の進展を抑制するためには、高血圧、高脂血症、凝固系亢進を改善することが必要であると考えられた。

A. 研究目的

わが国では生活習慣の急速な欧米化に伴い、腎疾患も生活習慣に関連した成人病型が急増している。特に糖尿病性腎症の進展による腎不全・透析が急増し、新規透析導入患者の原因疾患の第一位を占めるようになった。腎疾患の進展には患者の環境因子と遺伝因子が関与していると考えられ、糖尿病性腎症の進展速度、治療内容と予後を明らかにするためには経年的な観察を行うことが必要であるが、こうした研究はこれまでにほとんど行われていない。

本研究では、全国規模で構築された国立病院・療養所の腎疾患ネットワークシステムを活用して、日本人のⅡ型糖尿病性腎症の病態特性、特に進展速度とそれに関連する要因を明らかにすることを目的として、糖尿病性腎症の経年的な観察を行っている。

本年度は、平成12年度までにこのネットワークシステムに登録された症例について、登録

後3年目までの臨床所見および血液、尿検査結果を収集し、糖尿病性腎症の経年的変化、特に血清クレアチニン値が2.0 mg/dl以上または透析導入に関係する因子について検討した。

B. 研究方法

平成12年度までに全国国立病院・療養所腎疾患ネットワークシステム「腎ネット」に登録された症例のうち登録時にデータ欠損等のあるものを除外した218例を追跡調査の対象とし、登録後1年目、2年目、3年目における臨床所見、血液、尿検査所見を収集した。

登録時の病期は尿中アルブミン量により、正常アルブミン尿群（尿中アルブミン量30 mg/g Cr以下）、微量アルブミン尿群（尿中アルブミン量30~300 mg/g Cr）、顕性腎症（尿中アルブミン量300 mg/g Crを超える）の3群に分類した。経年観察1~3年目については、上記の3群に加えて、血清クレアチニンが2.0mg/dl以

上あるいは透析導入についても評価した。

次に、糖尿病性腎症の病期の進展に関連する要因を検討するため、登録時と経年観察3年目の結果が得られたものについて、不変群（登録時と3年目の病期が同一のもの）、改善群（登録時に微量アルブミン尿で3年目に正常群となったもの、登録時に顕性腎症で3年目に微量アルブミン尿となったもの）、悪化群（登録時に正常群で3年目に微量アルブミン尿となったもの、登録時に微量アルブミン尿で3年目に顕性腎症となったもの、登録時に顕性腎症で3年間に血清クレアチニン 2.0mg/dl 以上あるいは透析導入となったもの）に分類し、それぞれの要因、検査所見を比較した。

尿中IV型コラーゲン量については、基準上限値とされている 7.6  $\mu$ g/g Cr（日本人健常者の随時尿測定結果の上限 5%の値）を超えるものと 7.6  $\mu$ g/g Cr 以下のものの2群に分類した。

さらに、3年間に血清クレアチニン 2.0mg/dl 以上あるいは透析導入となったものをエンドポイントとして、Kaplan-Meier 法およびCoxの比例ハザードモデルによる解析を行った。

（倫理面への配慮）

すべての対象者に対して、本研究の主旨を説明した上で文書による同意を得た。解析に当たってはすべての結果を符号化し、氏名等の個人を特定できる情報は一切使用していないため、個人情報には完全に保護されている。

## C. 研究結果

### (1) 解析対象者数

平成 12 年度までに登録され、登録時にデータ欠損等のあるものを除いた 218 例のうち、同意取り消し、転居、転院等による脱落があったため、登録後 1 年目、2 年目、3 年目の対象者数は、それぞれ 204 名、198 名、188 名であった。このうち血液、尿検査結果が得られなかった症例を除き、登録後 1 年目には 176 名、2 年目には 123 名、3 年目には 102 名を解析対象とした。尿中IV型コラーゲン量については、それぞれ 171 名、118 名、102 名が解析対象である。

### (2) 尿中アルブミン量、IV型コラーゲン量の経年的比較

年次別の尿中アルブミン量および尿中IV型コラーゲン量による病期分類を表 1、表 2 に示した。血清クレアチニン 2.0 mg/dl 以上となったものは、1 年目 6 名、2 年目 4 名、3 年目 2 名、透析導入となったものはそれぞれ 2 名、1 名、0 名であった。

年次別の尿中アルブミン量による病期の関係を表 3 に示した。登録時と 3 年目のデータが得られたものは 102 名であり、登録時に正常群であった 38 名のうち 6 名は微量アルブミン尿となり、登録時に微量アルブミン尿であった 32 名のうち 6 名は正常群、6 名は顕性腎症となり、顕性腎症であった 32 名のうち 4 名は微量アルブミン尿となっていた。3 年間に血清クレアチニン 2.0 mg/dl 以上または透析導入となったものはいずれも登録時には顕性腎症であった。

年次別の尿中IV型コラーゲン量の関係は表 4 に示した。血清クレアチニン 2.0 mg/dl 以上または透析導入となったものはいずれも登録時には尿中IV型コラーゲン量が 7.6  $\mu$ g/g Cr 以上を超えていた。

### (3) 尿中アルブミン量の経年変化に関連する因子の検討

登録時の尿中アルブミン量による病期別に、3 年目の病態を改善群、不変群、悪化群に分類し、経年変化に関連する因子を比較した。

登録時に微量アルブミン尿であったもののうち悪化したものは、改善群及び不変群に比して登録時の年齢が有意に低く、HOMA INDEX が高かった。登録時に正常アルブミン尿のものうち悪化したものは 3 年目の HbA1c が有意に高かった。登録時に顕性腎症のものうち改善したものは 2 年目の HbA1c が不変群よりも有意に低かった。登録時に顕性腎症のものうち悪化したものは 1 年目の収縮期血圧が高かったが、有意ではなかった。2 年目の拡張期血圧は不変群よりも有意に低かった（表 5-1）。

登録時に顕性腎症であったもののうち悪化

したものは、登録時に HbA1c が 8.0%未満のものが有意に多く、罹病期間が 18 年以上と長いものが有意に高率であった (表 5-2)。

顕性腎症のものうち悪化したものは、登録時及び 1~3 年目の尿中 IV 型コラーゲン量が改善群及び不変群よりも有意に高かった。登録時に正常アルブミン尿、微量アルブミン尿であったものうち悪化したものは、いずれも 3 年目の尿中 IV 型コラーゲン量が高値であった (表 6)。

脂質代謝状況については、登録時に顕性腎症であったものうち改善したものは、登録時及び 1 年目の総コレステロール値が不変群及び悪化群よりも有意に低く、2, 3 年目は不変群よりも有意に低かった。顕性腎症のものうち悪化したものは 1 年目の Lp(a) 値が不変群よりも高く、RLPC が改善群及び不変群よりも有意に高かった (表 7)。

凝固系機能では、登録時に顕性腎症であったものうち悪化したものは、2 年目の PA-I/tPA、登録時及び 1, 2 年目の血漿 fibrinogen 値が改善群及び不変群よりも有意に高かった。1 年目の血漿 fibrinogen は悪化群が不変群よりも有意に高値であった。登録時に正常群であったものうち悪化したものは登録時の PA-I/tPA が不変群よりも有意に高かった (表 8)。

腎機能では、登録時に顕性腎症であったものうち悪化したものは血清クレアチニン、尿素窒素 (登録時、1~3 年目)、1 年目の血漿 NOx がいずれも改善群、不変群よりも有意に高値であった (表 9)。登録時に顕性腎症であったもの尿 NOx は、2, 3 年目には不変群が悪化群よりも有意に高かった。登録時に微量アルブミン尿であったものうち悪化したものは改善群及び不変群よりも 3 年目の尿 NOx は有意に低かった (表 10)。

#### (4) 尿中アルブミン量の経年変化と遺伝子多型の分布との関係

尿中アルブミン量の経年変化と遺伝子多型の分布との関係を表 11 に示した。登録時に顕性腎症であったものうち悪化したものは、

ACE (Intron 16) の DI genotype が 60.0%、vWF (Hph I) の AG genotype が 61.5% といずれも改善群及び不変群よりも高率であったが、有意ではなかった。その他の遺伝子多型についても経年変化に関連した有意な差はみられなかった。

#### (5) Kaplan-Meier 法による解析

3 年間の追跡期間中に血清クレアチニンが 2.0 mg/dl 以上あるいは透析導入となったものは合わせて 15 名であり、いずれも登録時には顕性腎症であった。そこで、登録時に顕性腎症であった 69 名のうち追跡データがまったく得られなかった 5 名を除く 64 名を解析対象として、血清クレアチニン値が 2.0 mg/dl 以上あるいは透析導入をエンドポイントとする Kaplan-Meier 法による解析を行った。

登録時に糖尿病の罹病期間が 18 年以上のものは 18 年未満のものに比してエンドポイントとなる割合が有意に高かった。登録時の血圧による差は有意ではなかったが、1 年目の収縮期血圧が 140 mmHg を超えていたものは 140 mmHg 以下のものよりもエンドポイントとなる割合が有意に高く、1 年目に降圧療法を受けていたものは受けていないものよりも高率であった。拡張期血圧による差は認められなかった (図 1-1)。

凝固系の指標として、vWF Fibrinogen PAI-1/(t-PA 1000) が 250 (登録時における上位四分位) を超えるものを凝固系亢進とし、250 以下のものと比較した。登録時の凝固系指標による差は有意ではなかったが、1 年目に凝固系が亢進していたものはエンドポイントとなる割合が有意に高かった。登録時に高 TG 血症があったもの、尿中 IV 型コラーゲン  $\geq 7.6 \mu\text{g/gCr}$  であったもの、尿中 fibronectin  $\geq 685 \mu\text{g/gCr}$  であったもの、尿中 MIG 量  $\geq 70 \text{ ng/gCr}$  であったものは、いずれもエンドポイントとなる割合が有意に高かった (図 1-2)。

遺伝子多型については、vWF (Hph I) の AA または AG genotype のものは、GG genotype に比してエンドポイントとなる割合が有意に

高かった。また、ACE (D/I, intron 16) の DI genotype のものは DD genotype に比してエンドポイントとなる割合が有意に高かったが、II genotype との差は見られなかった (図 1-3)。

#### (6) Cox の比例ハザードモデルによる解析

登録時 HbA1c, 罹病期間, 高 TG 血症, 1 年目の収縮期血圧, vWF (Hph I) 遺伝子多型の 5 因子を含む Cox の比例ハザードモデルによる解析を行った (表 12)。vWF (Hph I) の AA または AG genotype の GG genotype に対するリスク比が 2.15 と有意に大であった。その他の因子のリスク比は有意ではなかった。

#### D. 考察

平成 12 年度までに全国国立病院・療養所腎疾患ネットワークシステム「腎ネット」に登録された症例データベースを用いて、登録後 3 年目までの経年的な変化を観察し、糖尿病性腎症の進展に関連する因子について検討した。

3 年間の観察期間中に血清クレアチニン 2.0 mg/dl 以上となったものは 12 名、透析導入となったものは 3 名であり、これらはいずれも登録時に顕性腎症のものであった。一方、登録時に顕性腎症であり、3 年目の結果が得られた 102 名のうち 4 名は尿中アルブミン量が 300 mg/g Cr 以下に改善していた。

Kaplan-Meier 法により、顕性腎症の悪化に関連する因子を検討したところ、罹病期間 (登録時に 18 年以上)、収縮期血圧 (1 年目に >140 mmHg)、降圧療法 (1 年目)、凝固系亢進 (1 年目)、高コレステロール血症、高 TG 血症、尿中 IV 型コラーゲン量、尿中 fibronectin、尿中 MIG が高値であることが見いだされた。

遺伝子多型については、vWF (Hph I) の AA または AG genotype のものは悪化する割合が有意に高率であった。ACE (intron 16) の DI genotype も DD genotype に比して有意に高率であった。Cox の比例ハザードモデルによる解析でも、vWF (Hph I) の AA または AG genotype のリスク比は 2.15 と有意に大であっ

たが、他の因子は有意ではなかった。これらより、昨年度の検討と同様に vWF (Hph I) 遺伝子多型が顕性腎症の進展に関与している可能性が示唆された。

一方、登録時の HbA1c, 高血圧症, 凝固系亢進と顕性腎症の悪化との有意な関連は認められなかった。今回の検討では、観察期間が 3 年間と限られており、この間に悪化したものが比較的少数であったためと考えられる。血糖管理などの治療の意義を明らかにするためには、さらに長期間の観察を行う必要がある。

登録時の高コレステロール血症, 高 TG 血症, 1 年目の高血圧, 凝固系亢進などは、顕性腎症の悪化との関連が有意であったことから、顕性腎症の進展を抑制するためには、これらの病態を改善することが必要であると思われる。

#### E. 結論

全国国立病院・療養所腎疾患ネットワークシステムに登録された症例を対象に経年的変化を観察し、糖尿病性腎症の進展に関連する病態特性及び遺伝因子について検討した。

3 年間に血清クレアチニン 2.0 mg/dl 以上となったものは 12 名、透析導入となったものは 3 名であり、これらはいずれも登録時に顕性腎症のものであった。顕性腎症の悪化に関連する因子として、罹病期間 (登録時に 18 年以上)、収縮期血圧高値、降圧療法、高脂血症、凝固系亢進、尿中 IV 型コラーゲン、fibronectin、MIG 高値が見いだされた。遺伝子多型については、vWF (Hph I) の AA または AG genotype のものは悪化するリスクが有意に大であった。

以上より、vWF (Hph I) 遺伝子多型が糖尿病性腎症の進展に関与している可能性が示唆された。糖尿病性腎症の進展を抑制するためには、高血圧、高脂血症、凝固系亢進を改善することが必要であると考えられた。血糖管理状況や高血圧治療等が糖尿病性腎症の進展抑制に与える効果を評価するためには、さらに長期間にわたって経過を観察することが必要であろう。



表1 年次別尿中アルブミン量別分布

正常群:尿中アルブミン $\leq$ 30mg/gCr, 微量アルブミン尿:30-300mg/gCr, 顕性腎症:>300mg/gCr

	N	正常群	微量アルブ ミン尿	顕性腎症	血清クレアチ ニン>2.0mg/dl	透析導入
登録時	218	86	63	69	0	0
(%)		(39.4)	(28.9)	(31.7)	(0.0)	(0.0)
1年目	176	66	49	53	6	2
(%)		(37.5)	(27.8)	(30.1)	(3.4)	(1.1)
2年目	123	48	28	42	4	1
(%)		(39.0)	(22.8)	(34.1)	(3.3)	(0.8)
3年目	102	38	30	32	2	0
(%)		(37.3)	(29.4)	(31.4)	(2.0)	(0.0)

3年目までのデータがすべてそろっている者は69名である。

追跡データがまったく得られない者は27名である。

表2 年次別尿中IV型コラーゲン量分布

正常群:尿中IV型コラーゲン $\leq$ 7.6 $\mu$ g/gCr, 高値群:>7.6 $\mu$ g/gCr

	N	正常群	高値群	血清クレアチ ニン> 2.0mg/dl	透析導入
登録時	216	141	75	0	0
(%)		(65.3)	(34.7)	(0.0)	(0.0)
1年目	171	101	62	6	2
(%)		(59.1)	(36.3)	(3.5)	(1.2)
2年目	118	76	37	4	1
(%)		(64.4)	(31.4)	(3.4)	(0.8)
3年目	102	75	25	2	0
(%)		(73.5)	(24.5)	(2.0)	(0.0)

表3 尿中アルブミン量の経年変化

正常群:尿中アルブミン $\leq$ 30mg/gCr, 微量アルブミン尿:30-300mg/gCr, 顕性腎症: $>$ 300mg/gCr  
 (1) 登録時と1年目の比較

登録時	1年目			透析導入
	N	正常群	顕性腎症	
正常群	71	59	11	0
(%)		(83.1)	(15.5)	(0.0)
微量アルブミン尿	46	7	30	0
(%)		(15.2)	(65.2)	(0.0)
顕性腎症	59	0	8	2
(%)		(0.0)	(13.6)	(3.4)
合計	176	66	49	2
(%)		(37.5)	(27.8)	(1.1)

(2) 登録時と2年目の比較

登録時	2年目			透析導入
	N	正常群	顕性腎症	
正常群	48	41	7	0
(%)		(85.4)	(14.6)	(0.0)
微量アルブミン尿	31	5	18	0
(%)		(16.1)	(58.1)	(0.0)
顕性腎症	44	2	3	1
(%)		(4.5)	(6.8)	(2.3)
合計	123	48	28	1
(%)		(39.0)	(22.8)	(0.8)

(3) 登録時と3年目の比較

登録時	3年目			透析導入
	N	正常群	顕性腎症	
正常群	38	32	6	0
(%)		(84.2)	(15.8)	(0.0)
微量アルブミン尿	32	6	20	0
(%)		(18.8)	(62.5)	(0.0)
顕性腎症	32	0	4	0
(%)		(0.0)	(12.5)	(0.0)
合計	102	38	30	0
(%)		(37.3)	(29.4)	(0.0)

(4) 1年目と2年目の比較

1年目	2年目			透析導入
	N	正常群	顕性腎症	
正常群	38	32	6	0
(%)		(84.2)	(15.8)	(0.0)
微量アルブミン尿	33	9	16	0
(%)		(27.3)	(48.5)	(0.0)
顕性腎症	37	0	3	1
(%)		(0.0)	(8.1)	(2.7)
合計	108	41	25	1
(%)		(38.0)	(23.1)	(0.9)

(5) 1年目と3年目の比較

1年目	3年目			透析導入
	N	正常群	顕性腎症	
正常群	36	32	3	0
(%)		(88.9)	(8.3)	(0.0)
微量アルブミン尿	32	5	22	0
(%)		(15.6)	(68.8)	(0.0)
顕性腎症	33	0	5	0
(%)		(0.0)	(15.2)	(0.0)
合計	101	37	30	0
(%)		(36.6)	(29.7)	(0.0)

(6) 2年目と3年目の比較

2年目	3年目			透析導入
	N	正常群	顕性腎症	
正常群	27	23	4	0
(%)		(85.2)	(14.8)	(0.0)
微量アルブミン尿	15	3	11	0
(%)		(20.0)	(73.3)	(0.0)
顕性腎症	28	0	5	0
(%)		(0.0)	(17.9)	(0.0)
合計	70	26	20	0
(%)		(37.1)	(28.6)	(0.0)

表4 尿中IV型コラーゲン量の経年変化

正常群:尿中IV型コラーゲン $\leq 7.6 \mu\text{g/gCr}$ , 高値群: $> 7.6 \mu\text{g/gCr}$

(1) 登録時と1年目の比較

登録時	1年目			透析導入
	N	正常群	高値群	
正常群	106	82	24	0
(%)		(77.4)	(22.6)	(0.0)
高値群	64	19	37	2
(%)		(29.7)	(57.8)	(3.1)
合計	170	101	61	2
(%)		(59.4)	(35.9)	(1.2)

(2) 登録時と2年目の比較

登録時	2年目			透析導入
	N	正常群	高値群	
正常群	82	69	13	0
(%)		(84.1)	(15.9)	(0.0)
高値群	35	7	23	1
(%)		(20.0)	(65.7)	(2.9)
合計	117	76	36	1
(%)		(65.0)	(30.8)	(0.9)

(3) 登録時と3年目の比較

登録時	3年目			透析導入
	N	正常群	高値群	
正常群	72	60	12	0
(%)		(83.3)	(16.7)	(0.0)
高値群	29	15	12	0
(%)		(51.7)	(41.4)	(0.0)
合計	101	75	24	0
(%)		(74.3)	(23.8)	(0.0)

(4) 1年目と2年目の比較

1年目	2年目			透析導入
	N	正常群	高値群	
正常群	65	53	12	0
(%)		(81.5)	(18.5)	(0.0)
高値群	35	9	23	1
(%)		(25.7)	(65.7)	(2.9)
合計	100	62	35	1
(%)		(62.0)	(35.0)	(1.0)

(5) 1年目と3年目の比較

1年目	3年目			透析導入
	N	正常群	高値群	
正常群	62	54	8	0
(%)		(87.1)	(12.9)	(0.0)
高値群	36	17	17	0
(%)		(47.2)	(47.2)	(0.0)
合計	98	71	25	0
(%)		(72.4)	(25.5)	(0.0)

(6) 2年目と3年目の比較

2年目	3年目			透析導入
	N	正常群	高値群	
正常群	47	42	5	0
(%)		(89.4)	(10.6)	(0.0)
高値群	19	7	10	0
(%)		(36.8)	(52.6)	(0.0)
合計	66	49	15	0
(%)		(74.2)	(22.7)	(0.0)

表5-1 尿中アルブミン量の経年変化による年齢、糖尿病の病態及び血圧の比較

	登録時尿中アルブミン $\leq 30\text{mg/gCr}$				登録時尿中アルブミン $30\sim 300\text{mg/gCr}$				登録時尿中アルブミン $> 300\text{mg/gCr}$									
	不変群(n=32)		悪化群(n=6)		改善群(n=6)		不変群(n=20)		悪化群(n=6)		改善群(n=4)		不変群(n=26)		悪化群(n=15)			
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差		
年齢(歳)	56.1	7.6	55.3	10.1	0.826	59.3	4.3	57.2	6.3	48.0	7.0	58.3	8.1	56.2	9.4	56.7	2.3	0.910
糖尿病罹病期間(年)	15.2	5.9	12.3	2.9	0.259	19.3	11.4	16.6	7.0	16.5	5.3	17.8	4.6	14.7	6.3	19.0	6.7	0.115
HOMA INDEX	1.8	1.4	2.0	1.2	0.761	3.4	1.0	2.1	1.1	4.8	1.9	1.1	0.3	3.3	2.2	2.0	0.1	0.330
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )																		
登録時	23.1	2.9	23.8	3.3	0.627	23.4	4.5	23.5	2.2	24.6	4.3	22.5	3.1	25.0	3.5	22.7	4.0	0.115
1年目	23.5	2.8	24.9	6.7	0.593	27.9	6.0	23.3	2.0	22.6	-	25.7	-	25.5	3.8	19.9	2.8	0.133
2年目	22.8	2.6	23.9	3.4	0.383	23.7	4.6	23.0	2.4	24.5	5.0	22.3	4.0	25.6	3.8	25.0	5.7	0.352
3年目	22.8	2.7	23.0	2.4	0.886	23.5	5.1	23.9	2.9	24.9	3.6	21.3	4.4	25.0	3.4	26.2	5.3	0.221
Hb A1C (%)																		
登録時	7.38	1.64	7.50	0.60	0.856	8.05	1.23	8.23	1.13	8.00	1.63	6.95	0.99	8.36	1.59	7.72	1.50	0.161
1年目	7.67	1.09	8.08	0.69	0.391	8.07	0.81	7.99	1.53	8.47	1.84	6.92	0.97	8.26	1.60	7.27	0.98	0.065
2年目	7.55	1.13	8.08	0.81	0.277	7.45	0.69	7.96	1.31	8.65	1.71	6.52	0.62	8.27	1.51	6.66	1.42	0.009
3年目	7.41	1.01	8.50	1.18	0.035	7.65	1.04	8.42	1.79	9.18	1.71	6.98	0.81	8.21	1.32	7.13	1.26	0.107
収縮期血圧 (mmHg)																		
登録時	129.8	14.1	122.0	4.0	0.188	132.8	20.3	135.2	17.6	137.8	17.8	143.8	20.9	135.9	19.0	147.9	19.7	0.166
1年目	129.4	14.9	132.0	8.5	0.680	135.5	20.0	137.2	18.4	141.3	12.1	140.8	13.3	134.1	16.2	148.1	15.9	0.054
2年目	129.1	15.2	137.8	13.6	0.200	129.7	11.3	134.8	15.8	143.2	24.5	133.0	5.6	143.1	14.3	142.6	14.5	0.402
3年目	131.9	13.7	131.2	11.6	0.910	125.0	22.7	133.6	19.9	144.5	21.5	127.5	18.9	142.3	22.3	140.5	16.3	0.451
拡張期血圧 (mmHg)																		
登録時	75.3	9.1	71.5	7.3	0.349	76.8	11.6	78.4	13.4	83.2	8.7	79.3	7.5	79.2	10.6	80.2	11.3	0.954
1年目	75.8	9.6	75.5	6.9	0.946	77.5	9.0	75.2	13.6	82.7	12.7	76.3	5.7	77.3	10.9	75.8	9.9	0.910
2年目	76.1	8.5	74.0	9.7	0.592	75.8	11.3	78.2	12.9	81.5	14.5	74.3	3.7	83.6	8.9	73.9	6.7	0.010
3年目	74.9	7.6	73.2	9.0	0.647	72.8	14.6	75.7	13.9	88.8	9.7	71.3	12.6	81.0	10.2	72.8	10.4	0.130

\* HOMA INDEXは欠損値が多く、1,2,3年目の結果は解析不可、BMIも1年目は欠損多数